

2010 Diciembre, 2(2): 1-1

## LA INHIBICIÓN DE LA FOSFODIESTERASA 5A (FDE5A) DISMINUYE LA ACTIVIDAD DEL INTERCAMBIADOR Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> MIOCÁRDICO (NHE1) POR ACTIVACIÓN DE LA FOSFATASA PP2A

Díaz RG, Nolly MB, Massarutti C, Casarini MJ, Garciarena CD, Ennis IL, Cingolani HE, Pérez NG

*Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas – UNLP*

e-mail: [gisel\\_laplata@yahoo.com.ar](mailto:gisel_laplata@yahoo.com.ar)

### Introducción

Hallazgos previos de nuestro laboratorio sugieren que los inhibidores de la FDE5A disminuyen la actividad del NHE1.

### Objetivo

Nuestro objetivo fue profundizar la caracterización de dicha vía de señalización.

### Materiales y métodos

Se usaron músculos papilares aislados de rata. Se evaluó actividad del NHE1 mediante recuperación del pHi (eflujo de H<sup>+</sup>: J<sub>H+</sub>) post-acidosis transitorias o sostenidas (pulso de amonio). Se midió fosforilación de ERK1/2 (quinasas "upstream" NHE1) y del NHE1 por medio de inmunoprecipitación seguida de western blot.

### Resultados

La inhibición de FDE5A (1 μM sildenafil, S) no alteró el pHi basal (control 7.28±0.02 vs. S 7.28±0.02, n=4) ni la actividad del NHE1 post-acidosis transitoria [J<sub>H+</sub>: 1.01±0.13 (control, n=5) vs. 0.95±0.13 (S, n=4) mM/min], pero disminuyó la recuperación del pHi post-acidosis sostenida [J<sub>H+</sub> 3.01±0.14 (control, n=13) vs 0.40±0.15 (S, n=4) mM/min, P<0.05]. La acidosis sostenida aumentó la fosforilación de ERK1/2 (155±11% del control sin acidosis, n=10, P<0.05). La inhibición de MEK (10 μM U0126) kinasa activadora de ERK1/2, canceló el aumento de ERK1/2 (104±15% n=8) y mimetizó el efecto de S sobre la función del NHE1 (J<sub>H+</sub>: 0.56±0.12 mM/min, n=4). Sin embargo, S no canceló la activación de ERK1/2 (158±19%, n=7, P<0.05). Entonces pensamos que S podría estar activando fosfatasas (PP1 y/o PP2A) que directamente defosforilen al NHE1 sin alterar ERK1/2. La inhibición conjunta de PP1 y PP2A (1 μM ácido okadaico) canceló el efecto de S sobre el NHE1 (J<sub>H+</sub>: 2.51±0.14 mM/min, n=4). Similar resultado se obtuvo al inhibir sólo PP2A con ácido okadaico en dosis menor (1nM) (J<sub>H+</sub>: 2.95±0.16 mM/min, n=4) o más específicamente con endothall (100 μM) (J<sub>H+</sub>: 3.00±0.16 mM/min, n=4). Consistentemente, la acidosis aumentó la fosforilación del NHE1 (139±6% del control sin acidosis, n=4, P<0.05), S canceló este efecto (109±5%, n=4) y endothall revirtió la acción de S (136±6%, n=4, P<0.05).

### Conclusiones

Los resultados permiten sugerir que la inhibición de FDE5A disminuye la fosforilación y la actividad del NHE1 mediante un mecanismo que involucra activación de PP2A.